

بررسی اثر عصاره ترکیبی شوید (Anethum) بر روی لیپیدها و لیپوپروتئین های پلاسما در رت های سالم و دیابتی

مرتضی پیری^{۱*}، مریم السادات شاهین^{**}، شهربانو عریان^{***}

*مربی گروه فیزیولوژی جانوری - دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل، **کارشناس زیست شناسی - عضو باشگاه پژوهشگران جوان - دانشگاه آزاد اسلامی

واحد شهرری، ***استاد گروه زیست شناسی - دانشگاه تربیت معلم تهران

تاریخ دریافت: ۸۷/۶/۳۱ تاریخ تایید: ۸۷/۱۲/۲۰

چکیده:

زمینه و هدف: هیپرلیپدمی از ریسک فاکتورهای اصلی در پیشرفت بیماری های قلبی عروقی می باشد. آنتم داروی گیاهی است که به عنوان پایین آورنده چربی خون در ایران استفاده می شود. در این تحقیق اثرات هیپولیپیدمیک عصاره ترکیبی آنتم (Anethum) در رت های سالم و دیابتی تغذیه شده با جیره غذایی پرچرب مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی تعداد ۸۸ سر موش با تزریق استرپتوزوسین (STZ) دیابتی شدند. دو روز پس از دیابتی نمودن حیوانات، رت های سالم و دیابتی تحت تیمار با جیره غذایی پرچرب قرار گرفتند. یک هفته بعد از شروع جیره غذایی خاص، حیوانات به مدت سه هفته تحت تیمار دارویی با عصاره ترکیبی آنتم (Anethum) قرار گرفتند. پس از این مدت خون گیری انجام شد و سطح گلوکز، تری گلیسرید تام، کلسترول تام و لیپوپروتئین های با چگالی بالا به روش آنزیمی اندازه گیری شد. مقدار لیپوپروتئین های با چگالی پایین با فرمول فریدولد محاسبه گردید. داده ها به کمک آزمون های آماری آنالیز واریانس یک راهه و توکی تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها: عصاره ترکیبی آنتم در رت های سالم تغذیه شده با جیره غذایی پرچرب به صورت معنی داری سطح تری گلیسرید تام و لیپوپروتئین های با چگالی پایین را کاهش ($P<0/01$) و تا حدودی سطح لیپوپروتئین های با چگالی بالا ($P<0/05$) را افزایش داد، اما بر روی سطح گلوکز پلاسما اثر معنی داری نداشت. در رت های دیابتی تغذیه شده با جیره غذایی پرچرب، عصاره ترکیبی آنتم اثری بر روی سطح لیپیدها و لیپوپروتئین های پلاسما نداشت ولی سطح گلوکز خون را افزایش داد ($P<0/001$).

نتیجه گیری: نتایج نشان می دهد که عصاره ترکیبی آنتم دارای اثرات آنتی لیپیدمیک قوی در رت های سالم تغذیه شده با جیره غذایی پر چرب می باشد، اما داروی موثری برای پایین آوردن لیپیدهای پلاسما در رت های دیابتی القاء شده با استرپتوزوسین که جیره غذایی پرچرب دریافت کرده اند نیست.

واژه های کلیدی: آنتم، دیابت، استرپتوزوسین، لیپیدهای پلاسما، لیپوپروتئین های پلاسما.

مقدمه:

سطح لیپوپروتئین های با چگالی بالا را کاهش می دهد. مجموع تغییرات فوق باعث افزایش ریسک بیماری های قلبی عروقی می شود (۲،۱). از طرف دیگر بیماری دیابت یک اختلال متابولیکی می باشد که همراه با اختلال متابولیسم کربوهیدرات ها، لیپیدها و پروتئین ها می باشد.

تحقیقات نشان می دهد استفاده از جیره های غذایی با محتوی بالای کربوهیدرات ها و چربی ها می تواند باعث افزایش سطح لیپیدها و لیپوپروتئین های مضر پلاسما شود. استفاده از این جیره های غذایی باعث افزایش سطح تری گلیسرید تام، کلسترول تام و کلسترول لیپوپروتئین های با چگالی پایین می شود و

^۱ نویسنده مسئول: اردبیل- میدان بسیج- دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل- دانشکده پزشکی- تلفن: ۰۴۵۱-۷۷۲۷۹۰۵

E-mail: biopiri@yahoo.com

اختلالات لیپیدی در بیماران دیابتی شامل افزایش تری گلیسرید، کلسترول تام و لیپوپروتئین های با چگالی پایین و کاهش لیپوپروتئین های با چگالی بالا می باشد. این تغییرات لیپیدی همراه با افزایش فشارهای اکسیداتیو در بیماران دیابتی باعث افزایش ریسک ابتلا به بیماری های قلبی عروقی می شود. برای مدل سازی بیماری دیابت نوع I از داروی استرپتوزوسین (STZ) استفاده می شود، این دارو بر روی سلول های β جزایر لانگرهانس اثر کرده و باعث تخریب اختصاصی این سلول ها می شود، به این ترتیب مدلی از بیماران دیابتی ایجاد می شود. با توجه به اینکه که دیابتی نمودن رت ها با STZ در کوتاه مدت تنها باعث افزایش سطح تری گلیسرید پلاسما می شود (۳، ۴) و تغییر معنی داری در سطح کلسترول و لیپوپروتئین ها ایجاد نمی نماید (۵، ۶). در برخی از مطالعات رت های دیابتی تحت تیمار با جیره غذایی غنی از کلسترول قرار می گیرند، تا سطح کلسترول و لیپوپروتئین ها نیز دچار اختلال گردد و مدل بهتری از اختلالات لیپیدی ایجاد شود.

از قدیم شوید در بین مردم به عنوان دارویی برای درمان برخی از ناراحتی های گوارشی مانند نفخ، سوء هاضمه و زخم های معده و روده استفاده می شده است (۷، ۸). همچنین روغن های فرار موجود در شوید در دوزهای بسیار پایین دارای اثرات آنتی باکتریال بسیار قوی است (۹)، گزارشاتی وجود دارد، که نشان می دهد عصاره شوید دارای اثرات ضد اشتها می باشد و میزان غذای مصرف شده را کاهش می دهد (۱۰).

گزارشاتی نیز مبنی بر اثرات جهش زایی این گیاه منتشر شده است. اثرات جهش زایی این گیاه مربوط به وجود ترکیبات فورکومارینی می باشد. ترکیبات فورکومارینی ترکیباتی هستند که در برخی از گونه های گیاهی به ویژه گیاهان تیره جعفری وجود دارند، اکثر این ترکیبات فورکومارینی در حضور نور UV فعال شده و

با ماکرو مولکول های حیاتی نظیر DNA و RNA بر هم کنش نشان می دهند (۱۱).

عصاره شوید در ایران به عنوان یک داروی پایین آورنده چربی خون مصرف می شود. گزارشاتی نیز در مورد اثرات آنتی لیپیدمیک این گیاه منتشر شده است. مطالعات یزدان دوست و همکاران نشان می دهد که عصاره آبی برگ شوید قبل و بعد از استخراج فورکومارین ها قادر به پایین آوردن تری گلیسرید تام و کلسترول تام در رت های نر هیپرلیپیدمیک القاء شده با جیره غذایی می باشد (۱۲). مطالعات بهرامی کیا و همکاران نیز نشان داد که عصاره برگ شوید که با استفاده از آب، دی اتیل اتر یا اتیل استات استخراج شده است، قادر است تری-گلیسرید تام، کلسترول تام و لیپوپروتئین سبک را در رت هایی که کلسترول خون آنها با استفاده از جیره غذایی غنی از چربی افزایش یافته است، کاهش دهد (۱۳). بر خلاف گزارشات فوق اخیراً گزارشی بر اساس یک مطالعه کلینیکی صورت گرفته در شیراز منتشر شده که نشان می دهد، عصاره گیاه شوید قادر به اصلاح لیپیدها و لیپوپروتئین های پلاسما در بیماران هیپرلیپیدمیک نمی باشد (۱۴).

عصاره ترکیبی آنتوم یکی از داروهای گیاهی می باشد که به طور وسیعی برای پایین آوردن چربی خون در ایران مصرف می شود، این عصاره ترکیبی محتوی ۸۳ درصد برگ و دانه شوید (*Anethum graveolens*)، ۶ درصد ریشه کاسنی، ۶ درصد سرشاخه های گلدار شاهتره و ۵ درصد لیمو عمانی می باشد. با توجه به این که اختلالات لیپیدی دامنه وسیعی دارند و به علل مختلفی ایجاد می شوند و با در نظر داشتن این نکته که این دارو به صورت کلینیکی در انواع مختلف اختلالات لیپیدی مصرف می شود، بررسی میزان اثر بخشی این دارو در اختلالات لیپیدی مختلف بسیار حائز اهمیت بوده و الزامی به نظر می رسد. در این راستا، این مطالعه با هدف بررسی اثرات هیپولیپیدمیک عصاره ترکیبی آنتوم در رت های سالم

و دیابتی تغذیه شده با جیره غذایی پر چرب انجام گرفت.

روش بررسی:

این مطالعه به صورت تجربی بر روی ۸۸ سر موش های صحرایی نر نژاد ویستار که در محدوده وزنی ۲۰۰ الی ۲۵۰ گرم قرار داشتند، انجام گرفت. حیوان ها از انستیتو پاستور ایران خریداری شده و به حیوانخانه تحقیقاتی دانشگاه تربیت معلم تهران که محل انجام آزمایشات بود، منتقل شدند. در طول آزمایش ها آب و غذای کافی در اختیار موش ها قرار گرفت و دمای حیوانخانه بین 22 ± 3 درجه سانتیگراد متغیر بود. قبل از شروع آزمایش به مدت یک هفته به موش ها اجازه داده شد که خود را با شرایط حیوانخانه تطبیق دهند و سپس حیوانات در گروه های هشت تایی قرار داده شدند.

نحوه دیابتی نمودن حیوانات:

دیابتی نمودن حیوانات با یک بار تزریق درون صفاقی داروی استرپتوزوسین (60 mg/kg) صورت گرفت. برای اطمینان از دیابتی شدن حیوانات دو روز پس از تزریق استرپتوزوسین خون گیری به روش استون (۱۵) انجام گرفت و گلوکز خون جهت تایید دیابتی شدن حیوانات اندازه گیری شد و رت هایی که گلوکز خون آنها بالای ۳۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر بود جهت ادامه آزمایش انتخاب شدند.

جیره های غذایی غنی از کلسترول:

در این تحقیق علاوه بر جیره غذایی معمولی موش از دو نوع جیره غذایی ترکیبی با محتوی چربی بالا استفاده شد. جیره غذایی اول که به موش های سالم داده شد، محتوی ۶۶ درصد غذای معمولی موش، $3/5$ درصد کلسترول و $0/5$ درصد اسید کولیک، ۲۰ درصد دکستروز و ۱۰ درصد روغن زیتون بود و جیره غذایی دوم که به موش های دیابتی داده می شد محتوی ۹۱ درصد غذای معمولی موش، $3/5$ درصد کلسترول و $0/5$ درصد اسید کولیک و ۵ درصد روغن زیتون بود. برای تهیه جیره های غذایی ترکیبی ابتدا غذای معمولی را به صورت پودر در

آورده و سپس توسط مخلوط کن در طی مراحل متوالی مواد متشکله این جیره های غذایی با هم مخلوط شد تا کاملاً به صورت همگن در آمد، سپس با اضافه کردن روغن زیتون و فشرده نمودن مخلوط حاصل جیره غذایی ترکیبی تا حد امکان به حالت فشرده در آمد. یک هفته بعد از شروع این جیره غذایی پرچرب موش های سالم و دیابتی تغذیه شده با این جیره های غذایی تحت درمان دارویی با عصاره ترکیبی آنتوم (Anethum) قرار گرفتند.

جمع آوری گیاهان و روش عصاره گیری:

عصاره گیری و استاندارد سازی عصاره ترکیبی آنتوم (Anethum) توسط شرکت داروسازی ایران داروک انجام گرفت. بر اساس اطلاعات دریافت شده از این شرکت داروسازی عصاره گیاهی بکار رفته در این دارو حاوی ۸۳ درصد برگ و دانه شوید (*Anethum graveolens*)، ۶ درصد ریشه کاسنی، ۶ درصد سرشاخه های گلدار شاهتره و ۵ درصد لیمو عمانی می باشد. گیاه شوید (*Anethum graveolens*) از کرج جمع آوری شد و شناسایی تاکسونومیکی شوید و بقیه گیاهان بکار رفته در این عصاره ترکیبی در شرکت داروسازی ایران داروک انجام گرفت. گیاهان مورد استفاده در حرارت ۲۵ درجه سانتیگراد خشک شد و توسط آسیاب مکانیکی به پودر تبدیل گردید. سپس پودر حاصل با اتانول ۲۰ درصد مخلوط شد و مخلوط حاصل در دستگاه سوکسله (suxhlet) قرار داده شد. در نهایت عصاره حاصل توسط دستگاه روتاری (Rotary) خشک گردید.

تیمار دهی حیوانات با عصاره ترکیبی آنتوم:

برای بررسی اثرات هیپولیپیدمیک عصاره ترکیبی آنتوم (Anethum) محلول آبی عصاره ترکیبی آنتوم به صورت سوسپانسیون (100 mg/ml) تهیه شد. تیماردهی گروه ها با محلول آبی عصاره ترکیبی آنتوم هر روز یکبار به روش گاوآژ (Feeding-niddle) و به مدت ۲۱ روز انجام گرفت. تمامی رت های گروه کنترل در این مدت آب مقطر

(1 ml/kg) را به روش گاوژ دریافت می کردند.

خون گیری و جداسازی سرم خون:

جهت خون گیری از روش استون استفاده شد (۱۵).

به منظور خون گیری، بعد از بیهوش نمودن حیوانات با اتر خون وریدی از طریق سینوس رترواوربیتال گوشه داخلی چشم به وسیله لوله های هماتوکریت هپارینه جمع آوری شد. برای جدا سازی سرم، خون جمع آوری شده به مدت ۲۰ دقیقه در لوله آزمایش در دمای معمولی اتاق گذاشته شد و سپس به مدت پانزده دقیقه با سانتریفوژ ۳۰۰۰ دور سانتریفوژ گردید. برای اندازه گیری سطح گلوکز، تری گلیسرید

تام، کلسترول تام و کلسترول لیپوپروتئین های بالا از روش آنزیمی استفاده شد (کیت استاندارد-شرکت پارس آزمون، تهران-ایران). اساس روش اندازه گیری در تمامی این روش ها تا حدودی زیادی یکسان است به گونه ای که در مرحله اول با استفاده از یک سری واکنش های آنزیمی پراکسید هیدروژن از گلوکز، تری گلیسرید و کلسترول ایجاد می گردد و در مرحله بعدی پراکسید هیدروژن تولید شده وارد واکنش تولید رنگ می گردد که از روی شدت رنگ تولید شده و مقایسه آن با محلول استاندارد می توان غلظت گلوکز، تری گلیسرید و کلسترول را اندازه گیری نمود. اندازه گیری شدت رنگ با استفاده از اسپکتروفتومتر دیجیتالی صورت گرفت و میزان جذب نور در طول موج ۵۲۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت. لازم به ذکر است که برای اندازه گیری لیپوپروتئین های با چگالی بالا از روش رسوب دادن استفاده گردید، بدین ترتیب که در مرحله اول لیپوپروتئین های با چگالی پایین و خیلی پایین بوسیله معرف رسوب دهنده رسوب داده شدند و سپس مایع شفاف رویی که محتوی کلسترول لیپوپروتئین های با چگالی بالا می باشد، برداشته شد و کلسترول موجود در این لایه شفاف مانند آنچه در بالا ذکر گردید به روش آنزیمی اندازه گیری گردید.

محاسبه کلسترول لیپوپروتئین های با چگالی پایین (LDL-C):

محاسبه LDL-C با استفاده از فرمول فرید

والد صورت گرفت (۱۶).

$$LDL-C = TotalCholesterol - \left[HDL-C + \frac{TotalTriglycerid}{5} \right]$$

تیمارهای دارویی و آزمایشات انجام شده:

آزمایش اول: در بررسی میزان کارآمدی دو مدل

بکار رفته برای ایجاد حیوانات هیپرلیپیدمیک سه گروه حیوان انتخاب شد، گروه اول به عنوان کنترل بود که موش های نر سالمی بودند که تحت هیچ تیمار دارویی یا غذایی قرار نگرفته بودند، گروه دوم موش های سالمی بودند که به آنها جیره غذایی شماره یک که محتوی کلسترول، اسیدکولیک، دکستروز و روغن زیتون بعلاوه غذای معمولی موش بود به مدت یک ماه داده شد، گروه سوم نیز با تزریق درون صفاقی استرپتوزوسین (STZ) به مقدار (۶۰ mg/kg) دیابتی شدند. دو روز پس از تزریق STZ و اطمینان از دیابتی شدن حیوانات، آنها به مدت یک ماه تحت جیره غذایی شماره دو که محتوی کلسترول و اسید کولیک بعلاوه غذای معمولی موش بود قرار گرفتند. در پایان این دوره از تمامی گروه ها خون گیری شد و سنجش لیپیدها و لیپوپروتئین ها صورت گرفت.

آزمایش دوم: در بررسی اثرات آنتی لیپیدمیک

عصاره ترکیبی آنتوم در رت های دیابتی تغذیه شده با جیره غذایی پر چرب، چهار گروه حیوان در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. هر چهار گروه در ابتدا با تزریق واحدی از استرپتوزوسین (۶۰ mg/kg) دیابتی گردیدند. دو روز پس از تزریق STZ و پس از اطمینان از دیابتی شدن حیوانات، تمامی گروه تحت جیره غذایی غنی از کلسترول که محتوی ۳/۵ درصد کلسترول، ۰/۵ درصد اسید کولیک، ۵ درصد روغن زیتون و ۹۱ درصد غذای معمولی موش بود قرار گرفتند. یک هفته پس از شروع جیره غذایی خاص، حیوانات تحت تیمار دارویی قرار گرفتند، گروه اول

ترکیبی آنتوم درصد تغییر وزن حیوان در طی تیمار-دهی با عصاره ترکیبی آنتوم محاسبه گردید. سطح گلوکز، تری گلیسرید، کلسترول و لیپوپروتئین های با چگالی بالا و پایین در هر گروه به صورت میانگین و خطای معیار استاندارد ثبت گردید. در مرحله بعد آزمون کولموگراف - اسمیرنوف برای مشخص شدن نرمال بودن توزیع متغیرها انجام شد و بعد از اطمینان از نرمال بودن توزیع متغیرها، به منظور تعیین وجود اختلاف معنی دار بین گروه های آزمایش از آزمون واریانس یکطرفه و آزمون مکمل توکی استفاده گردید. اختلاف در سطح $P < 0.05$ به عنوان تفاوت معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها:

بررسی میزان کارآمدی استریتوزوسین در ایجاد حیوانات آزمایشگاهی هیپرلیپیدمیک:

تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که در رت های سالم و دیابتی تغذیه شده با جیره غذایی پر چرب، سطح تری گلیسرید تام ($P < 0.05$)، کلسترول تام ($P < 0.001$) و کلسترول لیپوپروتئین های سبک ($P < 0.001$) نسبت به گروه کنترل که رت های سالم تغذیه شده با جیره غذایی معمولی می باشد افزایش یافته است. آزمون مکمل توکی نشان داد که در هر دو گروه رت های سالم و دیابتی تغذیه شده با جیره غذایی پرچرب افزایش تری گلیسرید تام ($P < 0.05$) و افزایش کلسترول تام و لیپوپروتئین های با چگالی پایین ($P < 0.001$) از لحاظ آماری معنی دار می باشد. آزمون واریانس یک طرفه همچنین مشخص نمود که در رت های سالم و دیابتی سطح کلسترول لیپوپروتئین های سنگین نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی داری ندارد (نمودار شماره ۱).

نتایج تیمار با عصاره ترکیبی آنتوم در رت های

دیابتی تغذیه شده با جیره غذایی پرچرب:

تحلیل واریانس یکطرفه نشان داد که تیماردهی با عصاره ترکیبی آنتوم ($200, 50, 100$ mg/kg) به

به عنوان گروه کنترل، به مدت سه هفته تحت تیمار با سالین به صورت خوراکی قرار گرفت (1 ml/kg) و سه گروه بعدی مقادیر مختلف عصاره ترکیبی آنتوم ($200, 50, 100$ mg/kg) را به مدت سه هفته دریافت داشتند. در پایان سه هفته خون ناشتا از حیوانات گرفته شد و مقدار تری گلیسرید تام، کلسترول تام و کلسترول لیپوپروتئین های بالا اندازه گیری شد و مقدار لیپوپروتئین با چگالی پایین محاسبه گردید. همچنین وزن حیوانات در ابتدا و انتهای تیمار دهی با عصاره ترکیبی آنتوم و سطح گلوکز پلاسما در پایان تیماردهی با عصاره ترکیبی آنتوم ثبت گردید و از روی تغییر وزن حیوانات در طی تیماردهی با عصاره ترکیبی آنتوم درصد تغییر وزن حیوان در طی تیمار دهی با عصاره ترکیبی آنتوم محاسبه گردید.

آزمایش سوم: بررسی اثر عصاره ترکیبی آنتوم در رت های سالم تغذیه شده با جیره غذایی پرچرب، چهار گروه حیوان در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. تمامی گروه ها تحت جیره غذایی غنی از پرچرب با محتوی انرژی بالا، که محتوی $3/5$ درصد کلسترول، $0/5$ درصد اسید کولیک، 20 درصد دکستروز، 10 درصد روغن زیتون و 66 درصد غذای معمولی موش بود قرار گرفتند. یک هفته بعد از شروع جیره غذایی خاص نیز حیوانات تحت تیمار دارویی قرار گرفتند، گروه اول به عنوان گروه کنترل، به مدت سه هفته تحت تیمار با سالین به صورت خوراکی قرار گرفت (1 ml/kg) و سه گروه بعدی مقادیر مختلف عصاره ترکیبی آنتوم ($200, 50, 100$ mg/kg) را به مدت سه هفته دریافت داشتند. در پایان سه هفته خون ناشتا از حیوانات گرفته شد و مقدار تری گلیسرید تام، کلسترول تام و کلسترول لیپوپروتئین های بالا و پایین اندازه گیری شد. همچنین وزن حیوانات در ابتدا و انتهای تیمار دهی با عصاره ترکیبی آنتوم و سطح گلوکز پلاسما در پایان تیماردهی با عصاره ترکیبی آنتوم ثبت گردید و از روی تغییر وزن حیوانات در طی تیماردهی با عصاره

غذایی پرچرب باعث کاهش سطح تری گلیسرید تام پلاسما و لیپوپروتئین های با چگالی پایین ($P<0/01$) و افزایش سطح لیپوپروتئین با چگالی بالا ($P<0/05$) می شود. آزمون مکمل توکی نشان داد که کاهش تری گلیسرید تام در مقادیر ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg عصاره، کاهش لیپوپروتئین با چگالی پایین در مقدار ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg عصاره و افزایش کلسترول لیپوپروتئین های با چگالی بالا در مقدار ۱۰۰ mg/kg عصاره ترکیبی آنتوم از لحاظ آماری معنی دار می باشد. آزمون واریانس یک طرفه همچنین مشخص نمود که عصاره ترکیبی آنتوم تاثیری بر روی کلسترول تام پلاسما ندارد ($P>0/05$) (جدول شماره ۲).

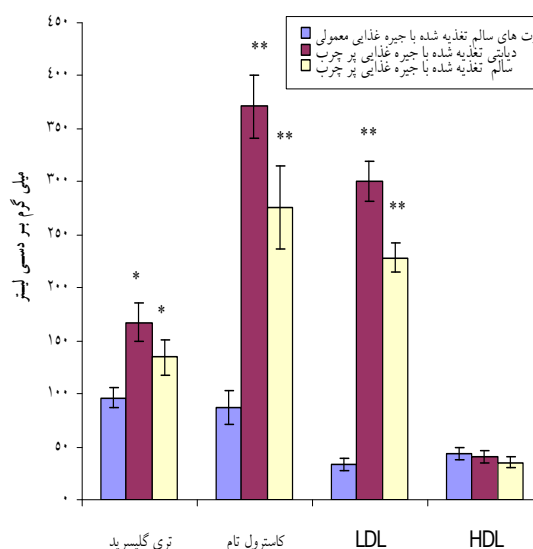
نتایج درصد تغییر وزن حیوان در مدت تیمار با عصاره ترکیبی آنتوم:

تحلیل واریانس یک طرفه مشخص نمود که تیمار رت های سالم و دیابتی با عصاره ترکیبی آنتوم به صورت معنی داری بر روی درصد تغییر وزن حیوان ها اثر می گذارد ($P<0/01$). آزمون مکمل توکی نشان داد که کاهش وزن ایجاد شده در هر دو گروه رت های سالم و دیابتی در مقادیر (۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg) عصاره ترکیبی آنتوم از لحاظ آماری معنی دار می باشد (نمودار شماره ۲).

مقایسه اثر عصاره ترکیبی آنتوم بر روی سطح گلوکز پلاسما در

رت های سالم و دیابتی شده تغذیه شده با جیره غذایی پرچرب:

تحلیل واریانس یکطرفه نشان داد که تیمار رت های سالم تغذیه شده با جیره غذایی پرچرب، با مقادیر مختلف عصاره آنتوم (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg) تاثیر معنی داری بر روی سطح گلوکز



نمودار شماره ۱: مقایسه سطح لیپید ها و لیپوپروتئین های پلاسما

در رت های سالم و دیابتی تغذیه شده با جیره غذایی پرچرب در مقایسه با رت های سالم تغذیه شده با غذای معمولی می باشند. LDL: لیپوپروتئین با چگالی پایین HDL: لیپوپروتئین با چگالی بالا. - داده ها بر اساس "انحراف معیار میانگین" می باشد.

مدت سه هفته در رت های دیابتی تغذیه شده با جیره غذایی پرچرب تاثیر معنی داری بر روی سطح تری گلیسرید تام پلاسما، کلسترول تام، لیپوپروتئین های با چگالی پایین و لیپوپروتئین با چگالی بالا ندارد ($P>0/05$) (جدول شماره ۱).

نتایج تیمار با عصاره ترکیبی آنتوم در رت های سالم تغذیه شده با جیره غذایی پرچرب:

تحلیل واریانس یکطرفه نشان داد که تیماردهی با عصاره ترکیبی آنتوم (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg) به مدت سه هفته در رت های سالم تغذیه شده با جیره

جدول شماره ۱: اثر عصاره ترکیبی آنتوم بر روی سطح لیپیدها و لیپوپروتئین های پلاسما در رت های دیابتی تغذیه شده با جیره غذایی پرچرب.

متغیر	عصاره ترکیبی آنتوم			گروه	کنترل (سالمین)
	۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم		
تری گلیسرید تام	۱۳۹/۲۹±۲۵/۰۷	۱۳۱/۶۵±۱۳/۴۸	۱۱۹/۹۴±۲۰/۱۷	۱۲۴/۸۷±۱۶/۵۳	
کلسترول تام	۴۰۱/۴۸±۴۰/۸۶	۴۱۰/۸۲±۳۲/۶۱	۴۲۱/۵۱±۳۱/۰۶	۳۹۴/۲۵±۲۶/۱۳	
LDL	۳۵۰/۴۷±۲۷/۳۹	۳۵۹/۲۶±۳۳/۷۱	۳۶۵/۱۹±۲۶/۲۸	۳۳۱/۸۷±۲۱/۴۱	
HDL	۳۸/۰۷±۵/۸۲	۴۵/۵۱±۶/۷۱	۳۹/۴۷±۷/۳۵	۴۳/۲۴±۶/۱۷	

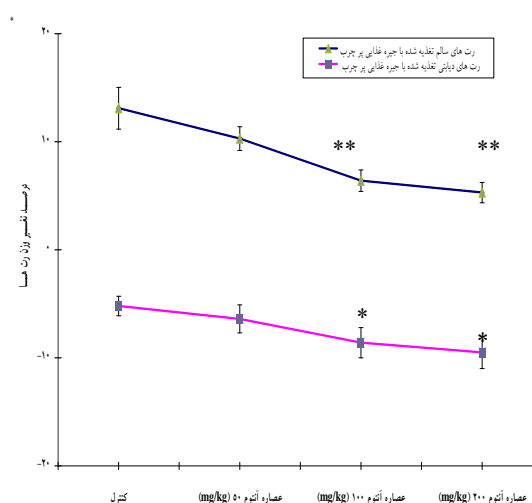
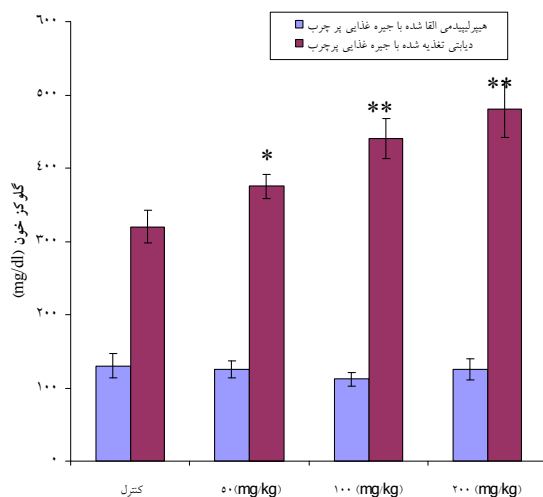
غلظت ها بر اساس mg/kg می باشد. $P>0/05$ بین گروه ها بر اساس آزمون تحلیل واریانس در همه متغیرها

LDL لیپوپروتئین با چگالی پایین، HDL لیپوپروتئین با چگالی بالا، داده ها بر اساس "خطای معیار میانگین" می باشد.

جدول شماره ۲: اثر عصاره ترکیبی آنوم بر روی سطح لیپیدها و لیپوپروتئین های پلاسما در رت های سالم تغذیه شده با جیره غذایی پرچرب

متغیر	گروه	کنترل (سالمین)	۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم
تری گلیسرید تام		۱۲۶/۵۹±۱۷/۶۱	۸۸/۹۴±۱۳/۱۸ *	۸۳/۷۲±۱۵/۸۲ **	۹۲/۰۳±۱۱/۴۳ *
کلسترول تام		۲۷۶/۶۱±۴۱/۳۸	۲۶۱/۲۴±۳۳/۲۱	۲۴۶/۱۴±۲۳/۵۲	۲۳۹/۷۳±۳۸/۵۸
LDL		۲۲۸/۵۶±۱۳/۷۹	۱۹۸/۲۰±۲۴/۸۴	۱۷۴/۶۵±۱۵/۹۴ **	۱۸۶/۳۹±۱۲/۳۵ *
HDL		۳۵/۱۳±۵/۰۷	۳۸/۱۵±۶/۹۵	۴۶/۴۱±۵/۸۱ *	۴۳/۳۱±۶/۹۴

* $P < 0.05$ و ** $P < 0.01$ نسبت به گروه کنترل. غلظت ها بر اساس mg/kg می باشد. LDL لیپوپروتئین با چگالی پایین، HDL لیپوپروتئین با چگالی بالا، داده ها بر اساس "خطای معیار تخمینان" می باشد.



نمودار شماره ۳: بررسی اثر عصاره ترکیبی آنوم در رت های سالم و دیابتی تغذیه شده با جیره غذایی پرچرب بر روی سطح گلوکز پلاسما.
* $P < 0.05$ و ** $P < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل.

نمودار شماره ۲: اثر عصاره ترکیبی آنوم بر روی درصد تغییر وزن رت های سالم و دیابتی تغذیه شده با جیره غذایی پرچرب در طی سه هفته تیمار دهی با عصاره ترکیبی آنوم.
* $P < 0.05$ و ** $P < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل می باشند.

نشان می دهد که در هر دو مدل، رت های سالم و دیابتی تغذیه شده با جیره غذایی پرچرب، سطح تری گلیسرید تام، کلسترول تام و لیپوپروتئین های با چگالی پایین افزایش معنی دار نسبت به گروه کنترل نشان می دهد. افزایش تری گلیسرید پلاسما در رت های دیابتی به واسطه کاهش انسولین می باشد. کاهش انسولین منجر به فعال شدن لیپاز بافت چربی و آزاد شدن اسیدهای چرب از بافت چربی می شود. این اسیدهای چرب به کبد منتقل و منجر به تحریک سنتزتری گلیسریدها و در نتیجه افزایش ترشح لیپوپروتئین های خیلی

پلاسما ندارد ($P > 0.05$)، اما در رت های دیابتی تغذیه شده با جیره غذایی پرچرب باعث افزایش معنی دار در سطح گلوکز پلاسما می شود ($P < 0.01$)، آزمون مکمل توکی مشخص نمود این افزایش در مقادیر مختلف عصاره ترکیبی آنوم (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ mg/kg) از لحاظ آماری معنی دار می باشد (نمودار شماره ۳).

بحث:

در این مطالعه از دو روش برای ایجاد حیوانات هیپرلیپیدمیک استفاده شد، که نتایج این مطالعه

سبک (VLDL) می شوند که در خون تبدیل به لیپوپروتئین های سبک می شوند. همچنین کاهش ترشح انسولین باعث کاهش فعالیت لیپوپروتئین لیپاز و در نتیجه کاهش برداشت تری گلیسیریدها پلاسما توسط بافت های محیطی می شود (۴،۳). تحقیقات قبلی نشان می دهند که استرپتوزوسین به تنهایی در کوتاه مدت قادر به افزایش سطح کلسترول پلاسما نمی باشد (۵،۶). بنابراین در این تحقیق به جیره غذایی موش های دیابتی کلسترول و اسیدکولیک نیز اضافه گردید تا سطح کلسترول و لیپوپروتئین های با چگالی پایین نیز افزایش یابد. اضافه نمودن کلسترول به جیره غذایی سنتز کلسترول درون زاد و بیان گیرنده های LDL کبدی را کاهش می دهد و کاهش گیرنده های LDL نیز باعث کاهش برداشت کبدی LDL از خون می شود. در نتیجه کلسترول تام و کلسترول موجود در لیپوپروتئین های سبک در پلاسما خون افزایش می یابد. از طرف دیگر اسید کولیک موجود در جیره غذایی نیز با مهار آنزیم ۷-آلفا هیدروکسیلاز موجب کاهش کاتابولیسم کلسترول و در نتیجه افزایش کلسترول پلاسما می شود (۱۷).

در رت های سالم نیز جیره غذایی پرچرب با محتوی انرژی بالا به صورت کارآمدی سطح لیپیدها و لیپوپروتئین های پلاسما را تغییر می دهد. تحقیقات متعدد نشان می دهند که جیره های غذایی غنی از کربوهیدرات و چربی ها باعث افزایش لیپیدهای پلاسما به ویژه تری گلیسیریدها می شوند (۱،۲). علت این پدیده این است که مازاد مواد غذایی انرژی زا، به اسیدهای چرب و در نهایت به تری گلیسیریدها تبدیل می شوند.

یافته های ما در این تحقیق نشان می دهد که عصاره ترکیبی آنتوم در رت های سالم تغذیه شده با جیره غذایی پرچرب سطح تری گلیسیرید تام و سطح لیپوپروتئین های با چگالی پایین را کاهش داده و سطح لیپوپروتئین های با چگالی بالا را افزایش می دهد، اما بر روی سطح کلسترول تام اثری ندارد. اما در رت های دیابتی تغذیه شده با جیره غذایی پرچرب عصاره ترکیبی آنتوم دارای اثر درمانی نمی باشد و قادر به

اصلاح سطح لیپیدها و لیپوپروتئین های پلاسما نمی باشد. اثر درمانی گیاه شوید در رت های سالم تغذیه شده با جیره غذایی پرچرب که محتوی انرژی بالایی دارد، شاید مربوط به فلاونوئیدها و روغن های فرار موجود در این گیاه باشد. گیاه شوید دارای مقادیر قابل توجهی از فلاونوئیدهای کوئرستین و ایزورامنتین می باشد (۱۸). ثابت شده است که کوئرستین و ایزورامنتین می توانند سطح تری گلیسیرید تام را پایین بیاورند. بخشی از این اثر کاهنده کوئرستین ناشی از کاهش تولید ApoB-100 توسط کبد می باشد. کاهش تولید ApoB-100 باعث کاهش VLDL (لیپوپروتئین با دانسیته بسیار پایین) پلاسما و در نتیجه کاهش تری گلیسیرید تام پلاسما می شود (۱۹). همچنین فلاونوئیدهای موجود در گیاه شوید، در اثر فعال کردن آنزیم های آنتی اکسیدان از اکسید شدن ذرات LDL جلوگیری می نمایند (۲۰،۲۱). روغن های ضروری موجود در شوید مانند لیمون، کارون و آنتوفوران نیز آنزیم های آنتی اکسیدان مانند گلوتاتیون ترانسفراز را فعال می نمایند (۲۲،۲۳).

برعکس رت های سالم تغذیه شده با جیره غذایی پرچرب، در رت های دیابتی تغذیه شده با جیره غذایی پرچرب، عصاره ترکیبی آنتوم دارای اثر درمانی نیست. درک مکانیسم واقعی این تفاوت نیازمند مطالعات بیشتر می باشد، اما شاید علت این تفاوت، تشدید عوارض بیماری دیابت در اثر مصرف عصاره ترکیبی آنتوم باشد. مطالعات ما نشان می دهد که عصاره آنتوم در رت های سالم تاثیر معنی داری بر روی سطح گلوکز خون ندارد، اما در رت های دیابتی باعث افزایش معنی دار در سطح گلوکز خون می شود. همچنین تشدید کاهش وزن اتفاق افتاده در رت های دیابتی توسط عصاره ترکیبی آنتوم نیز شاید به دلیل تشدید بیماری دیابت توسط عصاره ترکیبی آنتوم باشد، که تحقیقات بیشتر برای مشخص شدن علت این موضوع لازم می باشد. مطالعات نشان می دهد که آسیب سلول های بتا - پانکراس که همراه

عصاره ترکیبی در اختلالات لیپیدی مختلف بویژه در مدل انسانی لازم به نظر می‌رسد، همچنین در مطالعات بعدی با در نظر داشتن مکانیسم عمل دارو باید دلایل ناکارآمدی عصاره آنتوم در برخی از اختلالات لیپیدی مورد توجه قرار گیرد.

نتیجه گیری:

با توجه به اینکه موثرترین داروها برای پایین آوردن ریسک بیماری های قلبی عروقی ناشی از اختلالات لیپیدی، داروهایی می باشند که همراه با کاهش تری گلیسیریدها و لیپوپروتئین های با چگالی پایین، باعث افزایش سطح لیپوپروتئین های با چگالی بالا شوند. بنابراین بر اساس نتایج به دست آمده در این تحقیق به نظر می رسد که عصاره ترکیبی آنتوم می تواند به عنوان یک داروی موثر در کاهش ریسک بیماری های قلبی عروقی در اختلالات لیپیدی ایجاد شده با غذاهای پرچرب با محتوی انرژی بالا استفاده شود، اما باید مصرف این دارو در بیماران دیابتی با احتیاط و دقت بیشتری صورت گیرد. مسلماً انجام مطالعات کلینیکی می تواند مکمل این مطالعه تجربی باشد.

تشکر و قدردانی:

بدین وسیله از شرکت داروسازی ایران داروک (تهران، ایران) که با تهیه و استاندارد سازی عصاره ترکیبی آنتوم مقدمات انجام این تحقیق را فراهم نمود، تشکر و قدردانی می گردد.

با کاهش ظرفیت بازسازی این سلول ها می باشد منجر به ایجاد دیابت می شود. افزایش فشار اکسیداتیو هم می تواند یکی از علل ایجاد کننده بیماری دیابت باشد و هم در طی بیماری دیابت افزایش یابد. به علت ضعف طبیعی سیستم آنتی اکسیدان در سلول های بتا - پانکراس هر عاملی که باعث افزایش فشارهای اکسیداتیو شود باعث افزایش پیشرونده تخریب سلول های بتا - پانکراس می شود. برعکس عوامل آنتی اکسیدان قوی موجب بازسازی سلول های بتا - پانکراس و افزایش تولید انسولین می شوند (۲۴، ۲۵).

گزارش شده است که عصاره آنتوم محتوی مقداری ترکیبات فورکومارینی می باشد. برخی از این ترکیبات فورکومارینی موجود در عصاره آنتوم مانند ۵-متوکسی پسورال (methoxypsoralen) و ۸-متوکسی پسورال (8-methoxypsoralen) دارای فعالیت نوری متوسط می باشند (۱۱) و در اثر تابش امواج UV فعال شده و باعث افزایش فشارهای اکسیداتیو در بدن می شوند (۲۶). بنابراین می توان فرض کرد که در بیماران دیابتی که سطح فشارهای اکسیداتیو بالاتر از افراد طبیعی می باشد (۲۴، ۲۵)، مصرف عصاره آنتوم که محتوی ترکیبات فورکومارینی می باشد. با پیشبرد تخریب سلول های بتا - پانکراس عوارض ناشی از بیماری دیابت از جمله اختلالات لیپیدی ناشی از دیابت تشدید می شود.

با توجه به مصرف عصاره ترکیبی آنتوم به عنوان یک داروی پایین آورنده چربی خون در ایران، تحقیقات بیشتر برای مشخص شدن میزان اثر بخشی

منابع:

1. Albrink MJ, Ullrich IH. Interaction of dietary sucrose and fiber on serum lipids in healthy young men fed high carbohydrate diets. Am J Clin Nutr. 1986 Mar; 43(3): 419-28.
2. West CE, Sullivan DR, Katan MB, Halferkamp IL, van der Torre HW. Boys from populations with high-carbohydrate intake have higher fasting triglyceride levels than boys from populations with high-fat intake. Am J Epidemiol. 1990 Feb; 131(2): 271-82.

3. Yost TJ, Froyd KK, Jensen DR, Eckel RH. Change in skeletal muscle lipoprotein lipase activity in response to insulin/glucose in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism*. 1995 Jun; 44(6): 786-90.
4. Kako Y, Huang LS, Yang J, Katopodis T, Ramakrishnan R, Goldberg IJ. Streptozotocin-induced diabetes in human apolipoprotein B transgenic mice: effects on lipoproteins and atherosclerosis. *J Lipid Res*. 1999 Dec; 40(12): 2185-94.
5. Maechler P, Wollheim CB, Bentzen CL, Niesor E. Role of the intestinal acyl-CoA: cholesterol acyltransferase activity in the hyperresponse of diabetic rats to dietary cholesterol. *J Lipid Res*. 1992 Oct; 33(10): 1475-84.
6. Kobayashi T, Kamata K. Relationship among cholesterol, superoxide anion and endothelium-dependent relaxation in diabetic rats. *Eur J Pharmacol*. 1999 Feb; 367(2-3): 213-22.
7. Duke J. *Hanbooke of medical herbs*. London: CRC Press; 2001.
8. Hosseinzadeh H, Karimi GR, Ameri M. Effects of *Anethum graveolens* L. seed extracts on experimental gastric irritation models in mice. *BMC Pharmacol*. 2002 Dec; 2: 21-70.
9. Delaquis PJ, Stanich K, Girard B, Mazza G. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Int J Food Microbiol*. 2002 Mar; 74(1-2): 101-9.
10. Ismail IA, El-Hawary FMA, Farag NA. Acceptability and antifeeding properties of certain plants against the black cutworm, *Agrotis ipsilon* (HUFN.). *J Egypt Ger Soc Zool*. 1996; 21(E): 311-23.
11. Ojala T, Vuorela P, Kiviranta J, Vuorela H, Hiltunen R. A bioassay using *Artemia salina* for detecting phototoxicity of plant coumarins. *Planta Med*. 1999 Dec; 65(8): 715-8.
12. Yazdanparast R, Alavi M. Antihyperlipidaemic and antihypercholesterolaemic effects of *Anethum graveolens* leaves after the removal of furocoumarins. *Cytobios*. 2001; 105(410): 185-91.
13. Bahramikia S, Yazdanparast R. Efficacy of different fractions of *Anethum graveolens* leaves on serum lipoproteins and serum and liver oxidative status in experimentally induced hypercholesterolaemic rat models. *Am J Chin Med*. 2009; 37(4): 685-99.
14. Kojuri J, Vosoughi AR, Akrami M. Effects of anethum graveolens and garlic on lipid profile in hyperlipidemic patients. *Lipids Health Dis*. 2007; 6: 5.
15. Stone SH. Method for obtaining venous blood from the orbital sinus of the rat or mouse. *Science*. 1954 Jan; 119(3081): 100-5.
16. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972 Jun; 18(6): 499-502.
17. Brown MS, Goldstein JL. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell*. 1997 May; 89(3): 331-40.
18. Justesen U, Knuthsen P, Leth T. Determination of plant polyphenols in Danish foodstuffs by HPLC-UV and LC-MS detection. *Cancer Lett*. 1997 Mar; 114(1-2): 165-7.
19. Pal S, Ho N, Santos C, Dubois P, Mamo J, Croft K, et al. Red wine polyphenolics increase LDL receptor expression and activity and suppress the secretion of ApoB100 from human HepG2 cells. *J Nutr*. 2003 Mar; 133(3): 700-6.
20. Bok SH, Park SY, Park YB, Lee MK, Jeon SM, Jeong TS, et al. Quercetin dihydrate and gallate supplements lower plasma and hepatic lipids and change activities of hepatic antioxidant enzymes in high cholesterol-fed rats. *Int J Vitam Nutr Res*. 2002 May; 72(3): 161-9.
21. Mokrzycki K. [Anti-atherosclerotic efficacy of quercetin and sodium phenylbutyrate in rabbits]. *Ann Acad Med Stetin*. 2000; 46: 189-200.

22. Zheng GQ, Kenney PM, Lam LK. Anethofuran, carvone, and limonene: potential cancer chemopreventive agents from dill weed oil and caraway oil. *Planta Med.* 1992 Aug; 58(4): 338-41.
23. Souza MC, Siani AC, Ramos MF, Menezes-de-Lima OJ, Henriques MG. Evaluation of anti-inflammatory activity of essential oils from two *Asteraceae species*. *Pharmazie.* 2003 Aug; 58(8): 582-6.
24. Stephens JW, Dhamrait SS, Mani AR, Acharya J, Moore K, Hurel SJ, et al. Interaction between the uncoupling protein 2 -866G>A gene variant and cigarette smoking to increase oxidative stress in subjects with diabetes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2008 Jan; 18(1): 7-14.
25. Marra G, Cotroneo P, Pitocco D, Manto A, Di Leo MA, Ruotolo V, et al. Early increase of oxidative stress and reduced antioxidant defenses in patients with uncomplicated type 1 diabetes: a case for gender difference. *Diabetes Care.* 2002 Feb; 25(2): 370-5.
26. Gonzalez S, Pathak MA. Inhibition of ultraviolet-induced formation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, erythema and skin photosensitization by polypodium leucotomos. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 1996 Apr; 12(2): 45-56.

Received: 22/Sep/2009

Accepted: 11/Mar/2010

The effects of Anethum on plasma lipid and lipoprotein in normal and diabetic rats fed high fat diets

Piri M (MSc)^{*1}, Shahin MA (BSc)^{**}, Oryan Sh (PhD)^{***}

Lecturer, Physiology Dept., Islamic Azad University, Ardabil branch, Ardabil, Iran, ** Young Researchers Club, Islamic Azad University Shahrerey branch, Tehran, Iran, *Professor, Biology Dept., Tarbiat Moallem University, Tehran, Iran.*

Background and aim: Hypelipidemia is considered to be a major risk factor in the progression of coronary atherosclerosis and is associated with increase in the incidence of cardiac events. Anethum is used as a lipid lowering in Iran. The present study investigated the hypolipidemic effects of Anethum in normal and streptozocin- induced diabetic rats fed high fat diet.

Methods: Animals were treated once with streptozocin (60 mg/kg, i.p) and two days later normal and diabetic rats were under a special high fat diet. One week after initiation of the special high fat diet, animals were treated daily by oral administration of Anethum. All treatments continued for three weeks after which blood samples were collected -following an overnight fast- from retro-orbital sinus and the serum was separated. Then total triglyceride, total cholesterol and HDL-C in each serum sample were determined enzymatically using commercial kits and serum LDL-C levels were derived using the Friedewald formula.

Results: In both normal and diabetic rats fed high fat diet blood levels of glucose, lipids and LDL-C were increased as compared with control normal rats. Furthermore, in normal rats fed high fat diet, Anethum significantly decreased triglyceride ($P<0.01$) and LDL-C ($P<0.01$) and increased HDL-C ($P<0.05$), but could not affect blood glucose level. Anethum had not antilipidemic effect on diabetic rats fed high fat diet while Anethum increased blood glucose level. In addition, Anethum decreased body weight in normal and diabetic rats.

Conclusion: The results of this study show that Anethum has a strong antilipidemic effect in normal rats fed high fat diet, but is not an effective drug for lipid lowering in Streptozocin- induced diabetic rats fed high fat diet. Thus, precautions consumption of this drug must be taken in consideration for diabetic patients.

Keywords: Anethum, Diabetes, Streptozocin, Lipid plasma, Lipoprotein plasma.

¹Corresponding author:

Medical faculty, Islamic Azad University, Basij Squ, Ardabil, Iran.

Tel:

0451-7727905

E-mail:

biopiri@yahoo.com

